

胃液中microRNA检测在胃癌筛查及诊断中的研究进展

王君辅, 谢勇, 胡林, 李昌荣, 李红浪

■背景资料

胃癌严重危害人类健康, 早期发现、早期诊断对预后至关重要, 而目前缺乏诊断胃癌敏感特异性指标, 因此临床急需寻找一种早期诊断及筛查胃癌的方法。

王君辅, 谢勇, 胡林, 李昌荣, 李红浪, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006

王君辅, 住院医师, 主要从事胃肠肿瘤的临床与基础研究。

作者贡献分布: 此文主要由王君辅完成; 此课题由李红浪设计; 本论文写作由王君辅完成; 资料收集由谢勇完成; 数据校对与文章修改由胡林与李昌荣完成。

通讯作者: 李红浪, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院胃肠外科。lihonglang6802@163.com

电话: 0791-86312170

收稿日期: 2015-03-02 修回日期: 2015-04-19

接受日期: 2015-04-24 在线出版日期: 2015-06-08

characteristics and detection of gastric juice miRNAs, highlighting their role in the screening and diagnosis of gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA; Gastric juice; Gastric cancer; Diagnosis markers

Detection of gastric juice microRNAs for screening and diagnosis of gastric cancer

Jun-Fu Wang, Yong Xie, Lin Hu, Chang-Rong Li, Hong-Lang Li

Jun-Fu Wang, Yong Xie, Lin Hu, Chang-Rong Li, Hong-Lang Li, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Hong-Lang Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lihonglang6802@163.com

Received: 2015-03-02 Revised: 2015-04-19

Accepted: 2015-04-24 Published online: 2015-06-08

Wang JF, Xie Y, Hu L, Li CR, Li HL. Detection of gastric juice microRNAs for screening and diagnosis of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(16): 2562-2567 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2562.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i16.2562>

摘要

微小RNA(microRNA, miRNA)是近年在动植物体内发现的长度约为18-25个核苷酸的非编码RNA分子, 主要通过靶mRNA进行切割降解或翻译抑制来调节靶基因的表达。越来越多的研究证实体液中的miRNA与肿瘤的发展密切相关, 本文主要介绍了胃液中miRNA的结构、功能、特性检测方法, 重点介绍了近期国内外研究胃液中miRNA的检测优势及在胃癌筛查、诊断中的研究进展。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 微小RNA; 胃液; 胃癌; 诊断标志物

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are a group of noncoding small RNA molecules (21-25 nucleotides long) which are found in plants and animals. They can regulate the expression of target genes by cleaving and degrading or repressing the translation of target miRNAs. Many studies have confirmed that body fluid miRNAs are closely related to tumor development. This paper introduces the structure, function,

核心提示: 胃液中微小RNA(miRNA, miRNA)作为新的生物标志物, 用于胃癌早期诊断及筛查具有稳定、专一、方便、快捷、无创等特点, 具有较强的优势, 随着研究的不断深入和科学技术水平的提高, 在不久的将来胃液中

■同行评议者

李正荣, 副教授, 副主任医师, 南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

miRNA的研究可能有助于开发新颖的医学诊断及治疗工具, 从而提高患者生存质量和预后.

王君辅, 谢勇, 胡林, 李昌荣, 李红浪. 胃液中microRNA检测在胃癌筛查及诊断中的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(16): 2562-2567 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2562.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i16.2562>

0 引言

尽管胃癌的发生率降低, 但在世界各地胃癌仍然是第二癌症死因^[1]. 胃癌患者早期阶段确诊5年存活率可提高到60%以上, 但胃癌早期诊断较困难还不到25%^[2]. 近年来, 尽管日益增加的癌症早期检测、抗肿瘤药物的发展、广泛的实施胃癌根治性手术后总生存率有所改善, 但胃癌的5年生存率维持在25%以下, 晚期患者的平均生存时间只有6-9 mo^[3]. 因此寻找一种早期诊断及筛查胃癌的方法是非常关键的. 近年来微小RNA(microRNA, miRNA)在肿瘤研究中已取得长足的进步, 一些miRNA被证明在胃黏膜发生癌变过程中起关键作用^[4,5], miRNA几乎参与胃癌发生发展全过程, 在胃癌的筛查及诊断、治疗方面有着巨大的潜力. 本文主要阐述胃液中miRNA对胃癌诊断及筛查方面进展作一综述.

1 miRNA与胃癌发生发展的机制

miRNA是在生物体内发现的一类具有极高保守性^[6]、时序性^[7]、组织特异性^[8]及稳定性的长约18-25个核苷酸的非编码微小RNA, 主要是通过和靶基因miRNA的3'非转录区域互补结合, 抑制蛋白合成或诱导靶基因的降解, 从而抑制靶基因miRNA在生物体中的调控作用, 使miRNA在疾病的发生发展中起重要作用^[9-11]. 研究^[12]证实, miRNAs可能参与了细胞间信号传递, 并且在细胞信号转导方面发挥着重要的作用. miRNA可对肿瘤产生深远的影响, 在肿瘤细胞的生长、发育、增殖、分化、凋亡及肿瘤的转移浸润等生物学过程中起着关键性作用, 参与胃癌的发生发展的全过程^[13,14].

在胃癌的发生发展中过程中, miRNA通过各种不同途径来调控靶基因的表达来影响胃癌的发展, 异常表达的miRNA可通过促进细胞增殖诱导胃癌的发生^[15].

miRNA可直接与靶基因的3'端非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR)或5'UTR结合而沉默该基因, 最终达到调控靶基因的表达, 如特定编码蛋白基因的单核苷多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs), 其已被证实能影响肿瘤的易感基因, 3'UTR miRNA结合位点的SNPs可导致该基因的蛋白产物下降, miRNA结合位点或miRNA前体的SNPs均有助于胃癌的发生. 研究^[16-18]发现, *TNFAIP2*(肿瘤坏死因子诱导蛋白2抗体)基因3'UTR的miR-184结合位点rs8126>C多态性与*K-ras*(Sigma v-Ki-ras2鼠Kirsten肉瘤病毒致癌基因同源物)基因3'UTR的let-7结合位点rs712多态性均可明显增加胃癌的发生率. 然而, 白介素-1A(interleukin-1A, *IL-1A*)基因3'UTR的miR-122结合位点rs3783553多态性可降低胃癌的发病风险. 在胃病病变中的发展过程中某些miRNA的变化会直接导致肿瘤的恶变、病情的恶变、术后的复发等^[5,19].

2 miRNA的来源及检测

越来越多的学者研究发现, 不仅组织、血液循环中^[20-22]可以检测到miRNA, 胃液、胰液、唾液、尿液、乳液、精液、阴道分泌物等^[23-31]体液中亦可检测到miRNA. 目前学者普遍认为循环中miRNA主要来源以细胞的主动分泌和细胞代谢的裂解^[32-34], 主动分泌, 如癌细胞、正常细胞的主动分泌, 学者研究发现胃癌细胞不仅选择性的释放分泌miRNA, 而且选择性捕捉miRNA; 细胞代谢的裂解, 如细胞凋亡或坏死过程中裂解产生; 亦有学者^[35]报道, 饮食中摄取也可能是循环中miRNA来源的一个重要成分.

要了解胃液中miRNA的作用, 首选必须准确快速检测到miRNA, 检测胃液中miRNA的表达是一个非常重要的步骤. 胃液中miRNA检测方法与组织中miRNA检测方法相似, 主要有4种不同的方法^[36,37]: Northern blot法(印迹法)、miRNA芯片技术、实时荧光定量PCR检测法(qRT-PCR)、高通量测序法. 目前qRT-PCR是目前检测胃液中miRNA的主要方法, 其简单、快速、成本低、高效, 灵敏度和特异度较高, 广泛用于临床科研工作, 适用于初步筛选后大样本的验证^[38,39]. Northern blot法繁杂、耗时、灵敏度不高. miRNA芯片技术重复性和准确性差, 但价格相对较低, 只用于已知疾病相关

■ 研究前沿

微小RNA(microRNA, miRNA)是当今研究热点, 国内外大量报道miRNA在胃癌组织及循环血中表达, 以及在诊断、治疗、预后预测方面的作用, 而胃液中表达情况研究甚少, 胃液中miRNA可能成为胃癌诊断及筛查更加简单、方便、快捷、无创的检测指标.

■ 相关报道

郭俊明研究表明胃液中miRNA是一种优于传统血清学胃癌标志物的新候选胃癌标志物。

miRNAs初筛。

3 胃液中miRNA检测的优势

miRNA已被发现在多种体液中, 这些在特定体液中存在的miRNA具有组织特异性, 与周围邻近的组织类型密切相关, 根据这一点, 可推断在特定组织分泌的体液miRNA可作为该组织发生肿瘤较特异的生物标志物^[40]。胃液只存在于上消化系统, 主要由胃分泌, 仅存在于胃内, 唯一含有胃所有分泌物的液体, 一旦胃发生病变全部的生物物质(癌症相关蛋白、癌症相关miRNA)就会随同胃液一起分泌入胃中, 胃液的变化在某种程度上反映胃的病变种类和性质, 与其他体液相比, 胃液成分用于胃癌诊断及筛查具有较高的组织特异性, 对胃癌的诊断更具有优势。与外周血的肿瘤标志物相比, 胃液成分仅仅反映的是上消化道的疾病, 而外周血中反应的是全身疾病。虽外周血中miRNA的检测可用于肿瘤的诊断及筛查, 但一个重要的问题在于大多数miRNA在外周血中表达可能有几种类型的癌症共享, 无组织特异性, 因此检测胃液肿瘤标志物比检测外周血中肿瘤标志物更具临床意义。体液和组织中的miRNA常与蛋白质等构成复合物存在, 因此具有良好的耐RNase降解特点, 即在煮沸、反复冷冻、酸碱环境、长期冷冻保存等苛刻的条件下亦不会造成miRNA的破坏损失^[41], 故胃液中miRNA亦具有足够的稳定性, 而胃液中的蛋白标志物易于降解、变性, 因此检测胃液中miRNA较蛋白标志物更具临床意义和价值。

有学者^[42]借助“拉线试验”方法获得胃液标本, 减轻患者取样过程中的痛苦, 大大缩短临床采集样本时间, 更加方便容易, 既经济患者亦容易接受, 这为胃液miRNA分析的无创性诊断技术开展胃癌高危人群筛查提供了新方法。其优势在于他是一种潜在的胃癌分子基因诊断替代品, 是一种新的组织特异性高、无创性方法筛查胃癌。

4 胃液中miRNA在胃癌诊断及筛查中的应用

在胃癌的筛查中, 胃液提供了有价值的临床病理资料如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染检查, *H. pylori*感染会影响胃癌患者和/或健康者体内miRNA的表达水平; *H. pylori*感染是胃癌的主要危险因素, 虽然

机制尚不清楚, 但基因甲基化是导致胃癌发病的重要机制, *H. pylori*可使某些基因片段中miRNA和DNA出现异常, 从而诱导基因甲基化引起胃癌的发生^[43]。因此检测胃液肿瘤标志物比检测血清肿瘤标志物更具有临床意义和价值^[44]。Cui等^[45]应用qRT-PCR检测miR-21和miR-106a在不同患者胃液中的表达情况, 经分析比较发现胃癌患者胃液中miR-21和miR-106a水平低于胃良性病变患者; 良、恶性胃病的ROC曲线下面积(area under the ROC curve, AUC)分别达到0.969($P<0.0001$)和0.871($P<0.0001$), 其最佳截断值(以 ΔCq 表示)分别为-2.73和2.61, 男性胃癌患者胃液miR-21和miR-106a水平明显低于女性患者($P=0.015$)。胃癌患者胃液miR-21和miR-106a的水平与其Borrmann分型显著相关。对于胃癌的辅助诊断, 胃液miR-21和miR-106a在诊断效力和阳性检出率等方面均高于目前常用胃癌血清标志物癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、癌相关糖抗原199(carbohydrate antigen-199, CA-199)等指标。经不同胃病患者胃液miRNA水平的比较分析, 明确了胃液miRNA在胃癌辅助诊断中的价值, 证明了胃液miRNA是一种优于传统血清学胃癌标志物的新候选胃癌标志物。

Yu等^[46]通过qRT-PCR对141例(包括胃癌、胃溃疡、萎缩性胃炎患者、健康对照者)胃液中miR-129-1-3p和miR-129-2-3p进行检测, 发现在胃癌患者胃液中miR-129-1-3p和miR-129-2-3p的表达水平明显低于胃良性病变, miR-129-1-3p和miR-129-2-3p的AUC值分别为0.639和0.651, 两者联合检测则上升至0.656。证明特定miRNA在胃液中的表达状态可用于胃癌的筛查, 而且检测胃液中miRNA的表达水平用于胃癌的诊断是一种非常便捷的检测方法。

Zhang等^[47]应用qRT-PCR对胃癌、胃良性疾病患者胃液中miR-421的表达水平进行分析, 发现胃癌患者与胃良性疾病患者胃液中miR-421表达差异有统计学意义($P<0.001$), 且胃癌患者胃液中miR-421表达水平低于胃良性病变疾病, ROC评价诊断价值曲线下面积达0.767(95%CI: 0.684-0.850)。胃液中miR-421表达水平与临床因素肿瘤大小、Borrmann分型、Lauren分型无关。其在胃液中诊断胃癌的截断值为5.21, 灵敏度和特异性分别为71.4%和71.7%, 与胃液中CEA特异性(69.04%)相比

更加灵敏, 结合CEA检出胃癌率更高. 结果表明胃液中miR-421可用于胃癌筛查的一种生物标志物.

5 结论

胃液样品在胃疾病检测中是一种很好的样本资源, 用胃液作为胃癌的诊断材料较血液及其他体液更具的特异性. 胃液在内镜下、胃管引流、拉线试验等方法很容易获得, 在胃癌分子遗传诊断学中他有一个潜在的替代材料优点, 胃液中某些肽类物质和固有荧光光谱可用于胃癌的诊断^[43,48], 然而肽的稳定性在胃液中尚不明确, 胃液荧光物质亦容易淬灭. 胃液高效能液体色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法测定色氨酸浓度, 这种筛查方法具有良好的精度和稳定性, 在胃癌的筛查中具有一定的潜力^[49]. 然而胃液中miRNA用于胃癌早期诊断及筛查综合上述几种胃液中检测方法的优点: 稳定、专一、方便、快捷、无创等特点, 更具有潜力.

胃液中miRNA检测与胃疾病的研究处于初步阶段, 但显示出良好的应用前景, 然而要在临床中推广胃液miRNA检测面临着很多问题和挑战: 检测指标标准化, 定量检测建立一个标准; 检测方法标准化, 规范检测方法以免不同实验设备和操作技术差别导致检测结果差异, 检测方法进行改进, 寻找更加简单可行标准化的方法; 明确循环及体液中miRNA来源; 整合新的完整数据库, 完善miRNA谱; 联合多种miRNA及肿瘤指标联合检测, 提高诊断准确性; 降低成本, 利于临床应用.

胃液中miRNA作为新的生物标志物具有较强的优势, 随着研究的不断深入和科学技术水平的提高, 在不久的将来胃液中miRNA的研究可能有助于开发新颖的医学诊断及治疗工具, 期待进一步研究以利于临床中的应用, 从而提高患者生存质量和预后.

6 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 Sapari NS, Loh M, Vaithilingam A, Soong R. Clinical potential of DNA methylation in gastric cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e36275 [PMID: 22558417 DOI: 10.1371/journal.pone.0036275]
- 3 Durães C, Almeida GM, Seruca R, Oliveira C, Carneiro F. Biomarkers for gastric cancer:

- prognostic, predictive or targets of therapy? *Virchows Arch* 2014; 464: 367-378 [PMID: 24487788 DOI: 10.1007/s00428-013-1533-y]
- 4 Zhang BG, Li JF, Yu BQ, Zhu ZG, Liu BY, Yan M. microRNA-21 promotes tumor proliferation and invasion in gastric cancer by targeting PTEN. *Oncol Rep* 2012; 27: 1019-1026 [PMID: 22267008 DOI: 10.3892/or.2012.1645]
- 5 Liao YL, Hu LY, Tsai KW, Wu CW, Chan WC, Li SC, Lai CH, Ho MR, Fang WL, Huang KH, Lin WC. Transcriptional regulation of miR-196b by ETS2 in gastric cancer cells. *Carcinogenesis* 2012; 33: 760-769 [PMID: 22298639 DOI: 10.1093/carcin/bgs023]
- 6 Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol* 2002; 12: 735-739 [PMID: 12007417 DOI: 10.1016/S0960-9822(02)00809-6]
- 7 Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294: 853-858 [PMID: 11679670 DOI: 10.1126/science.1064921]
- 8 Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 2004; 303: 83-86 [PMID: 14657504 DOI: 10.1126/science.1091903]
- 9 Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer* 2006; 94: 776-780 [PMID: 16495913]
- 10 Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci* 2010; 101: 2087-2092 [PMID: 20624164 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01650.x]
- 11 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 857-866 [PMID: 17060945 DOI: 10.1038/nrc1997]
- 12 Williams Z, Ben-Dov IZ, Elias R, Mihailovic A, Brown M, Rosenwaks Z, Tuschl T. Comprehensive profiling of circulating microRNA via small RNA sequencing of cDNA libraries reveals biomarker potential and limitations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 4255-4260 [PMID: 23440203 DOI: 10.1073/pnas.1214046110]
- 13 Zhuo Y, Gao G, Shi JA, Zhou X, Wang X. miRNAs: biogenesis, origin and evolution, functions on virus-host interaction. *Cell Physiol Biochem* 2013; 32: 499-510 [PMID: 24008513 DOI: 10.1159/000354455]
- 14 Zhao X, Li X, Yuan H. microRNAs in gastric cancer invasion and metastasis. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2013; 18: 803-810 [PMID: 23747848]
- 15 Stenvang J, Petri A, Lindow M, Obad S, Kauppinen S. Inhibition of microRNA function by anti-miR oligonucleotides. *Silence* 2012; 3: 1 [PMID: 22230293 DOI: 10.1186/1758-907X-3-1]
- 16 Li ZH, Pan XM, Han BW, Guo XM, Zhang Z, Jia J, Gao LB. A let-7 binding site polymorphism rs712 in the KRAS 3' UTR is associated with an increased risk of gastric cancer. *Tumour Biol* 2013; 34: 3159-3163 [PMID: 23729275 DOI: 10.1007/s13277-013-0885-x]
- 17 Xu Y, Ma H, Yu H, Liu Z, Wang LE, Tan D, Muddasani R, Lu V, Ajani JA, Wang Y, Wei Q. The miR-184 binding-site rs8126 T & gt; C polymorphism in TNFAIP2 is associated with risk

创新盘点

本文主要通过阐述检测胃癌患者胃液中miRNA, 对胃癌的早期诊断及筛查提供帮助.

■应用要点

检测胃癌患者胃液中miRNA, 对胃癌的早期诊断及筛查提供帮助。胃液中miRNA作为新的生物标志物具有较强的优势, 在不久的将来胃液中miRNA的研究可能有助于开发新颖的医学诊断及治疗工具。

- of gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e64973 [PMID: 23724109 DOI: 10.1371/journal.pone.0064973]
- 18 Zeng XF, Li J, Li SB. A functional polymorphism in IL-1A gene is associated with a reduced risk of gastric cancer. *Tumour Biol* 2014; 35: 265-268 [PMID: 23900673 DOI: 10.1007/s13277-013-1034-2]
- 19 Li X, Zhang Y, Zhang Y, Ding J, Wu K, Fan D. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature. *Gut* 2010; 59: 579-585 [PMID: 19951901 DOI: 10.1136/gut.2008.175497]
- 20 Wang M, Gu H, Wang S, Qian H, Zhu W, Zhang L, Zhao C, Tao Y, Xu W. Circulating miR-17-5p and miR-20a: molecular markers for gastric cancer. *Mol Med Rep* 2012; 5: 1514-1520 [PMID: 22406928 DOI: 10.3892/mmr.2012.828]
- 21 Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, Banham AH, Pezzella F, Boultonwood J, Wainscoat JS, Hatton CS, Harris AL. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 141: 672-675 [PMID: 18318758 DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07077.x]
- 22 朱程君, 张锦英, 魏娟, 刘怡茜, 束永前. 血浆miR-191和miR-27a在胃癌诊断中的价值. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2011; 31: 1173-1178
- 23 Sadakari Y, Ohtsuka T, Ohuchida K, Tsutsumi K, Takahata S, Nakamura M, Mizumoto K, Tanaka M. MicroRNA expression analyses in preoperative pancreatic juice samples of pancreatic ductal adenocarcinoma. *JOP* 2010; 11: 587-592 [PMID: 21068491]
- 24 Yamada Y, Enokida H, Kojima S, Kawakami K, Chiyomaru T, Tatarano S, Yoshino H, Kawahara K, Nishiyama K, Seki N, Nakagawa M. MiR-96 and miR-183 detection in urine serve as potential tumor markers of urothelial carcinoma: correlation with stage and grade, and comparison with urinary cytology. *Cancer Sci* 2011; 102: 522-529 [PMID: 21166959 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01816.x]
- 25 Xie Y, Todd NW, Liu Z, Zhan M, Fang H, Peng H, Alattar M, Deepak J, Stass SA, Jiang F. Altered miRNA expression in sputum for diagnosis of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2010; 67: 170-176 [PMID: 19446359 DOI: 10.1016/j.lungcan.2009.04.004]
- 26 Yu L, Todd NW, Xing L, Xie Y, Zhang H, Liu Z, Fang H, Zhang J, Katz RL, Jiang F. Early detection of lung adenocarcinoma in sputum by a panel of microRNA markers. *Int J Cancer* 2010; 127: 2870-2878 [PMID: 21351266 DOI: 10.1002/ijc.25289]
- 27 Park NJ, Zhou H, Elashoff D, Henson BS, Kastratovic DA, Abemayor E, Wong DT. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5473-5477 [PMID: 19706812 DOI: 10.1158/1078-0432]
- 28 Wang J, Raimondo M, Guha S, Chen J, Diao L, Dong X, Wallace MB, Killary AM, Frazier ML, Woodward TA, Wang J, Sen S. Circulating microRNAs in pancreatic juice as candidate biomarkers of pancreatic cancer. *J Cancer* 2014; 5: 696-705 [PMID: 25258651 DOI: 10.7150/jca.10094]
- 29 Hanke M, Hoefig K, Merz H, Feller AC, Kausch I, Jocham D, Warnecke JM, Sczakiel G. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. *Urol Oncol* 2010; 28: 655-661 [PMID: 19375957 DOI: 10.1016/j.urolonc.2009.01.027]
- 30 Hanson EK, Lubenow H, Ballantyne J. Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs. *Anal Biochem* 2009; 387: 303-314 [PMID: 19454234 DOI: 10.1016/j.ab.2009.01.037]
- 31 Tzimagiorgis G, Michailidou EZ, Kritis A, Markopoulos AK, Koudou S. Recovering circulating extracellular or cell-free RNA from bodily fluids. *Cancer Epidemiol* 2011; 35: 580-589 [PMID: 21514265 DOI: 10.1016/j.canep.2011.02.016]
- 32 Ohshima K, Inoue K, Fujiwara A, Hatakeyama K, Kanto K, Watanabe Y, Muramatsu K, Fukuda Y, Ogura S, Yamaguchi K, Mochizuki T. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line. *PLoS One* 2010; 5: e13247 [PMID: 20949044 DOI: 10.1371/journal.pone.0013247]
- 33 Cocucci E, Racchetti G, Meldolesi J. Shedding microvesicles: artefacts no more. *Trends Cell Biol* 2009; 19: 43-51 [PMID: 19144520 DOI: 10.1016/j.tcb.2008.11.003]
- 34 Liu H, Zhu L, Liu B, Yang L, Meng X, Zhang W, Ma Y, Xiao H. Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer. *Cancer Lett* 2012; 316: 196-203 [PMID: 22169097 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.10.034]
- 35 Kosaka N, Izumi H, Sekine K, Ochiya T. microRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk. *Silence* 2010; 1: 7 [PMID: 20226005 DOI: 10.1186/1758-907X-1-7]
- 36 Moltzahn F, Olshen AB, Baehner L, Peek A, Fong L, Stöppler H, Simko J, Hilton JF, Carroll P, Blleloch R. Microfluidic-based multiplex qRT-PCR identifies diagnostic and prognostic microRNA signatures in the sera of prostate cancer patients. *Cancer Res* 2011; 71: 550-560 [PMID: 21098088 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1229]
- 37 Zhao H, Shen J, Medico L, Wang D, Ambrosone CB, Liu S. A pilot study of circulating miRNAs as potential biomarkers of early stage breast cancer. *PLoS One* 2010; 5: e13735 [PMID: 21060830 DOI: 10.1371/journal.pone.0013735]
- 38 Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT, Barbisin M, Xu NL, Mahuvakar VR, Andersen MR, Lao KQ, Livak KJ, Guegler KJ. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: e179 [PMID: 16314309]
- 39 Stewart B, Lancaster G, Lawson J, Williams K, Daly J. Validation of the Alder Hey Triage Pain Score. *Arch Dis Child* 2004; 89: 625-630 [PMID: 15210492]
- 40 Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, Galas DJ, Wang K. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem* 2010; 56: 1733-1741 [PMID: 20847327 DOI: 10.1373/clinchem.2010.147405]
- 41 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T,

- Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
- 42 Hsu PI, Chen CH, Hsiao M, Wu DC, Lin CY, Lai KH, Lu PJ. Diagnosis of gastric malignancy using gastric juice alpha1-antitrypsin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 405-411 [PMID: 20086110 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0609]
- 43 Li BS, Zhao YL, Guo G, Li W, Zhu ED, Luo X, Mao XH, Zou QM, Yu PW, Zuo QF, Li N, Tang B, Liu KY, Xiao B. Plasma microRNAs, miR-223, miR-21 and miR-218, as novel potential biomarkers for gastric cancer detection. *PLoS One* 2012; 7: e41629 [PMID: 22860003 DOI: 10.1371/journal.pone.0041629]
- 44 成军, 王严庆. 胃癌患者胃液血清中CA72-4, CA19-9和CEA联合检测的临床价值探讨. *重庆医科大学学报* 2003; 28: 17-20
- 45 Cui L, Zhang X, Ye G, Zheng T, Song H, Deng H, Xiao B, Xia T, Yu X, Le Y, Guo J. Gastric juice MicroRNAs as potential biomarkers for the screening of gastric cancer. *Cancer* 2013; 119: 1618-1626 [PMID: 23335180 DOI: 10.1002/cncr.27903]
- 46 Yu X, Luo L, Wu Y, Yu X, Liu Y, Yu X, Zhao X, Zhang X, Cui L, Ye G, Le Y, Guo J. Gastric juice miR-129 as a potential biomarker for screening gastric cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 365 [PMID: 23307240 DOI: 10.1007/s12032-012-0365-y]
- 47 Zhang X, Cui L, Ye G, Zheng T, Song H, Xia T, Yu X, Xiao B, Le Y, Guo J. Gastric juice microRNA-421 is a new biomarker for screening gastric cancer. *Tumour Biol* 2012; 33: 2349-2355 [PMID: 22926798 DOI: 10.1007/s13277-012-0497-x]
- 48 Zhou LY, Lin SR, Li Y, Geng QM, Ding SG, Meng LM, Sun XN, Wang JT, Xu ZJ, Guo HL, Li CG, Cui RL. The intrinsic fluorescence spectrum of dilute gastric juice as a novel diagnostic tool for gastric cancer. *J Dig Dis* 2011; 12: 279-285 [PMID: 21791022 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00507.x]
- 49 Lian W, Ma DJ, Xu X, Chen Y, Wu YL. Rapid high-performance liquid chromatography method for determination of tryptophan in gastric juice. *J Dig Dis* 2012; 13: 100-106 [PMID: 22257478 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00559.x]

同行评价

本文介绍了胃液中miRNA在胃癌早期诊断及筛查中的研究进展, 内容新颖, 有较高的指导意义。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

